

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-91822

(P2001-91822A)

(43) 公開日 平成13年4月6日 (2001.4.6)

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テーム(参考)
G 0 2 B 7/28		G 0 2 B 21/36	2 H 0 5 1
21/36		7/11	J 2 H 0 5 2

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 14 頁)

(21) 出願番号 特願平11-270297

(22) 出願日 平成11年9月24日 (1999.9.24)

(71) 出願人 000000376

オリンパス光学工業株式会社

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号

(72) 発明者 岸野 卓

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリ

ンパス光学工業株式会社内

(74) 代理人 100058479

弁理士 錦江 武彦 (外4名)

Pターム(参考) 2H051 A411 B447 B449 B466 B470

C814 C003 C023 C025 C029

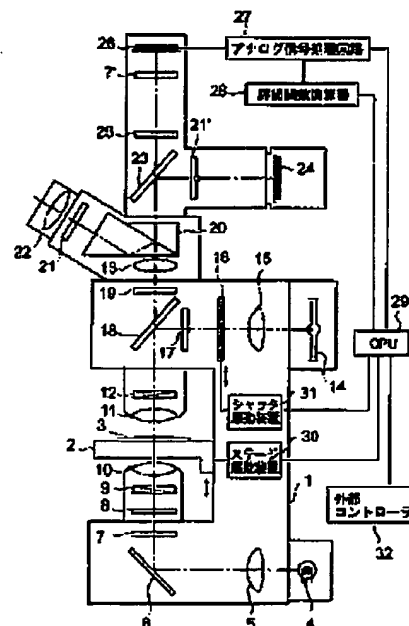
2H052 A004 A005 A009 A018

(54) 【発明の名称】 顕微鏡用焦点検出装置

(57) 【要約】

【課題】 落射蛍光観察におけるオートフォーカスの効率が向上する顕微鏡用焦点検出装置を提供すること。

【解決手段】 特定波長の励起光を標本3に照射し、該励起光より波長の長い光を対物レンズ11で集める落射蛍光観察手段14、15、17～19と、透過照明手段4、5、10の中であって、蛍光より長い波長の光を透過するフィルタ7と、7を透過した光のうち一方を透過し、他方を反射するダイクロイックミラー23と、23により分離された短波長側及び長波長側に夫々配され、3の観察光像を撮像するカメラ24及び3の観察光像の蓄積を行うイメージセンサ26と、26の出力に基づいて3の観察光像の焦点状態を検出する焦点検出手段27～29と、27～29の台座度に応じて11、3側の少なくとも一方を駆動して台座点サーチを行うサーボ手段及び26、27～29を制御するCPU29を備えたもの。



(2)

特開2001-91822

1

2

【特許請求の範囲】

【請求項1】 対物レンズを通して特定の波長の励起光を標本に照射し、発生した励起光より長い特定の波長の蛍光を対物レンズで集める落射蛍光観察手段と、

前記対物レンズと対向する側から前記標本を照射する透過照明手段と、

前記透過照明手段の中であって、前記蛍光より長い特定の波長の光を透過する分光透過特性を有する特定波長透過手段と、

前記蛍光もしくは前記特定波長透過手段を透過した光のうち、いずれか一方を透過し、もう一方を反射するよう

な分光透過特性を有する波長分離手段と、

前記波長分離手段により分離された短波長側に配され、

前記標本の観察光像を撮像する撮像手段と、

前記波長分離手段により分離された長波長側に配され、

前記標本の観察光像を受光し、一定のレンジに適合する

まで前記観察光像の蓄積を行う受光手段と、

前記受光手段の出力信号に対する合焦度評価値に基づいて

前記標本の観察光像の焦点状態を検出する焦点検出手

段と、

前記焦点検出手段の合焦度に応じて前記対物レンズ側も

しくは前記標本側の少なくとも一方を駆動して合焦点サ

ーチを行うサーボ手段と、

前記受光手段、前記焦点検出手段、及び前記サーボ手段

を統括制御する制御手段と、

を具備したことを特徴とする顕微鏡用焦点検出装置。

【請求項2】 前記落射蛍光観察手段の中であって、前

記励起光の波長を切替える切替手段と、

観察光の波長に基づく前記撮像手段に対する前記受光手

段の結像位置誤差を補正する光路長補正手段と、

前記励起光によって発生する蛍光の波長データに基づい

て前記光路長補正手段を駆動する駆動手段と、

を具備したことを特徴とする請求項1に記載の顕微鏡用

焦点検出装置。

【請求項3】 前記駆動手段とは別に構成され、前記蛍光

の波長データとは無関係に前記撮像手段に対する結像位

置を任意のオフセット量だけ移動するオフセット手段を

具備したことを特徴とする請求項2に記載の顕微鏡用焦

点検出装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、顕微鏡に用いられる焦点検出装置に関し、特に落射蛍光顕微鏡に用いられる顕微鏡用焦点検出装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】従来より、対物レンズによる標本の観察像をTV画面により観察したり、写真撮影したりする顕微鏡装置において、対物レンズの焦点を検出し、TVカメラや写真フィルム等の撮像面上に合焦させるためのオートフォーカス装置は重要なアプリケーションの一つで

ある。

【0003】最近では、生体組織や生物細胞を蛍光試薬で染色し、試薬を励起することで発生する蛍光を観察する落射蛍光顕微鏡が普及し、この落射蛍光顕微鏡にマッチングしたオートフォーカス装置が求められている。

【0004】特開平9-189849号公報は、このような蛍光観察に対応したオートフォーカス装置を開示したものであり、写真システム等と焦点検出装置の各々の結像光学系において生じる色収差に基づく同焦差を、蛍光の波長に基づいて補正する方法が開示されている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】一方で、落射蛍光観察に用いるオートフォーカス装置における問題として、観察される蛍光波長の絶対光量が小さいため、焦点検出に用いられる受光素子のレンジに適合するための入射光の蓄積時間が多く必要であり、すなわちオートフォーカスの処理時間が長いという問題がある。

【0006】この問題は、観察の効率が悪いだけでなく、オートフォーカスの処理動作中は落射照明による励起光が継続的に標本に照射され、標本の不要な褪色を余儀無くされると、蛍光観察において致命的な問題を抱えている。

【0007】本発明は、上記のような課題を解決するためなされたもので、落射蛍光観察におけるオートフォーカスの効率が向上する顕微鏡用焦点検出装置を提供することを目的とする。

【0008】

【課題を解決するための手段】前記目的を達成するため、請求項1に対応する発明は、対物レンズを通して特定の波長の励起光を標本に照射し、発生した励起光より長い特定の波長の蛍光を対物レンズで集める落射蛍光観察手段と、前記対物レンズと対向する側から前記標本を照射する透過照明手段と、前記透過照明手段の中であって、前記蛍光より長い特定の波長の光を透過する分光透過特性を有する特定波長透過手段と、前記蛍光もしくは前記特定波長透過手段を透過した光のうち、いずれか一方を透過し、もう一方を反射するような分光透過特性を有する波長分離手段と、前記波長分離手段により分離された短波長側に配され、前記標本の観察光像を撮像する撮像手段と、前記波長分離手段により分離された長波長側に配され、前記標本の観察光像を受光し、一定のレンジに適合するまで前記観察光像の蓄積を行う受光手段と、前記受光手段の出力信号に対する合焦度評価値に基づいて前記標本の観察光像の焦点状態を検出する焦点検出手段と、前記焦点検出手段の合焦度に応じて前記対物レンズ側もしくは前記標本側の少なくとも一方を駆動して合焦点サーチを行うサーボ手段と、前記受光手段、前記焦点検出手段、及び前記サーボ手段を統括制御する制御手段とを具備した顕微鏡用焦点検出装置である。

【0009】請求項1に対応する発明によれば、次のよ

(3)

特開2001-91822

3

4

うな作用効果が得られる。すなわち、焦点検出手段による焦点検出は、受光手段に投影される透過照明観察光像に基づいて行われるので、この透過照明光量を大きくすることにより、一定のレンジに適合するための前記受光手段による透過照明観察光像の蓄積時間を短くすることができる。従って、光量の小さい蛍光観察においても、制御手段による合焦に要する時間を短くすることができる。また、落射照明により発した蛍光は、波長分離手段の長波長側に分割されることなく、前記波長分離手段の短波長側に配された撮像手段に効率良く導入される。この結果、合焦に要する時間が短く、且つ蛍光観察の効率の高い顕微鏡用焦点検出装置とすることができる。

【0010】前記目的を達成するため、請求項2に対応する発明は、前記落射蛍光観察手段の中において、前記励起光の波長を切換える切換手段と、観察光の波長に基づく前記撮像手段に対する前記受光手段の結像位置誤差を補正する光路長補正手段と、前記励起光によって発生する蛍光の波長データに基づいて前記光路長補正手段を駆動する駆動手段とを具備した請求項1に記載の顕微鏡用焦点検出装置である。

【0011】請求項2に対応する発明によれば、次のような作用効果が得られる。すなわち、請求項1に記載の発明による効果に加え、励起光によって発生する蛍光の波長データに基づいて光路長補正手段を駆動することにより、蛍光の波長に基づく前記撮像手段に対する前記受光手段の結像位置誤差を補正することができるので、蛍光の波長によらず前記撮像手段に対する合焦の精度を確保した顕微鏡用焦点検出装置とすることができる。

【0012】前記目的を達成するため、請求項3に対応する発明は、前記駆動手段とは別に構成され、前記蛍光の波長データとは無関係に前記撮像手段に対する結像位置を任意のオフセット量だけ移動するオフセット手段を具備したことを特徴とする請求項2に記載の顕微鏡用焦点検出装置である。

【0013】請求項3に対応する発明によれば、次のような作用効果が得られる。すなわち、請求項2に記載の発明による効果に加え、前記撮像手段に対する観察像の台座位置を、前記制御手段による台座結果に対して定量的に略一定量オフセットすることができるので、例えば標本の厚みが大きい場合において、前記受光手段に検出される部分に対して撮像したい部分の厚み方向の位置の差が大きい場合でも、撮像したい部分が撮像光路において結像する位置を前記撮像手段上にマニュアル動作で合わせ込むことで、前記制御手段による合焦により定量的に撮像したい部分を台焦とすることが可能となる等、観察者の要求に柔軟に対応した顕微鏡用焦点検出装置とすることができる。

【0014】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施の形態につき図面を参照して説明する。

10

20

30

40

50

【0015】＜第1の実施の形態＞図1は、本発明の第1の実施の形態を示した構成図であり、本実施形態は、概略以下のように構成されている。すなわち、対物レンズ11を通して特定の波長の励起光を標本3に照射し、発生した励起光より長い特定の波長の蛍光を対物レンズで集める例えば光源14、コレクタレンズ15、励起フィルタ17、ダイクロイックミラー18、吸収フィルタ19、対物レンズ11からなる落射蛍光観察手段と、対物レンズ11と対向する側から標本3を照射する例えば光源4、コレクタレンズ5、コンデンサレンズ10からなる透過照明手段と、該透過照明手段の中において、該蛍光より長い特定の波長の光を透過する分光透過特性を有する例えばバンドパスフィルタ7からなる特定波長透過手段と、該蛍光もしくは該特定波長透過手段を透過した光のうち、いずれか一方を透過し、もう一方を反射するような分光透過特性を有する例えばダイクロイックミラー23からなる波長分離手段と、該波長分離手段により分離された短波長側に配され、標本3の観察光像を撮像する例えばテレビカメラ（撮像面24）からなる撮像手段と、該波長分離手段により分離された長波長側に配され、標本3の観察光像を受光し、一定のレンジに適合するまで観察光像の蓄積を行う例えばイメージセンサ26からなる受光手段と、該受光手段の出力信号に対する台座度評価値に基づいて標本3の観察光像の焦点状態を検出する例えばアナログ信号処理回路27、評価演算器28、CPU29からなる焦点検出手段と、該焦点検出手段の台座度に応じて標本3を駆動して台座点サーチを行うCPU29とステージ駆動装置30からなるサーボ手段と、該受光手段、該焦点検出手段、及び該サーボ手段を統括制御する例えばCPU29からなる制御手段とを具備したものである。

【0016】以下これについて詳細に説明する。図において、1は顕微鏡本体で、この顕微鏡本体1には、ステージ2を設けている。このステージ2は、標本3を載置すると共に、光軸に対して平行方向に移動可能にしている。

【0017】ステージ2の下方には、透過微分干渉観察のための照明光学系が構成されている。具体的には、光源4から出射された光は、コレクタレンズ5により集められ、全反射ミラー6で標本3の方向に反射し、バンドパスフィルタ7で特定の波長のみ透過し、ポラライザ8に入射する。尚、バンドパスフィルタ7の分光透過率特性については後述する。

【0018】そしてポラライザ8から出射した直線偏光は、ウォラストンプリズム（複屈折素子）9を通過して互いに直交する方向に振動する二つの直線偏光に分かれ、これらはコンデンサレンズ10で集光され、ウォラストンプリズム9に固有の傾き（シア）を持って標本3を透過する。

【0019】そして、これら二つの直線偏光は、対物レ

(4)

特開2001-91822

5

5

レンズ11を透過し、第2のウォラストンプリズム12と後述するアナライザ25によって干渉し、それら二つの波面による干渉像は、標本3の位相変化を微分したものが、明暗のコントラストの差として、結像レンズ13を介して観察され得る。

【0020】一方、ステージ2の上方には、落射蛍光観察のための照明光学系が構成されている。具体的には、光源14から出射された光は、コレクタレンズ15により進められ、シャッタ16の開放時のみ通過し、励起フィルタ17によって標本3を励起するのに必要な波長の10のみが通過し、ダイクロイックミラー18によって反射し、ウォラストンプリズム12を通り対物レンズ11によって標本3に照射される。

【0021】これにより標本3の蛍光色素に染色されている部分が励起され、励起光より長い波長の蛍光を発する。発した蛍光は対物レンズ11で集められ、ウォラストンプリズム12を通りダイクロイックミラー18を透過する。ダイクロイックミラー18を透過した蛍光像は、特定される波長領域より長い波長の蛍光のみを透過する吸収フィルタ19を透過した後、結像レンズ13を介して観察される。ここで、前記の励起フィルタ17、ダイクロイックミラー18、吸収フィルタ19の分光透過率特性は、後述するように、従来の落射蛍光顕微鏡と同様一般的なものである。

【0022】また、前記落射蛍光観察のための照明光学系の上方には、標本3の像を目視観察するための観察光学系、及びTVカメラや写真フィルム等で撮像するための撮像光学系、及び標本3に対する対物レンズ11の焦点を検出するための焦点検出光学系が構成されている。

【0023】具体的には、結像レンズ13を通過した後、光路分割プリズム20によって反射した光は、後述するような分光透過率特性を持つローパスフィルタ21及び接眼レンズ22を介して観察される。

【0024】一方、結像レンズ13を通過した後、光路分割プリズム20を透過した光は、後述するような分光透過率特性を持つ第2のダイクロイックミラー23によって、特定される波長領域より短い波長の光が反射し、前記波長領域より長い波長の光が透過する。この第2のダイクロイックミラー23を反射した光は、後述するような前記ローパスフィルタ21と略同一な分光透過率特性を持つローパスフィルタ21'を介して、結像レンズ13の焦点位置に配置されたTVカメラや写真フィルム等の撮像面24上に結像される。

【0025】他方、前記第2のダイクロイックミラー23を透過した光は、アナライザ25及びバンドパスフィルタ7と略同一な分光透過率特性を持つバンドパスフィルタ7'を介して、撮像面24と光学的に共役な位置に配置されたイメージセンサ26上に結像される。

【0026】図2は、この第1の実施の形態の構成における、バンドパスフィルタ7、励起フィルタ17、ダイ

クロイックミラー18、吸収フィルタ19、ローパスフィルタ21、第2のダイクロイックミラー23、ローパスフィルタ21'及びバンドパスフィルタ7'の分光透過率特性を示す図である。

【0027】なお、前述したように、励起フィルタ17、ダイクロイックミラー18、吸収フィルタ19の分光透過率特性は、従来の落射蛍光顕微鏡と同様一般的なものであり、またバンドパスフィルタ7'はバンドパスフィルタ7と略同一な分光透過率特性を持っており、ローパスフィルタ21'はローパスフィルタ21と略同一な分光透過率特性を持っている。

【0028】ここで、図2に示すように、第2のダイクロイックミラー23の分光透過率が立ち上がる波長領域Dは、励起フィルタ17を透過した励起光によって励起された蛍光波長の波長領域Fと重なり合わない長波長側にあり、且つバンドパスフィルタ7及び7'の分光透過率特性のピークより短波長側にある。

【0029】また、ローパスフィルタ21及び21'の分光透過率が立ち下がる波長領域Dは、励起フィルタ17を透過した励起光によって励起された蛍光波長の強度分布のピークより長波長側にあり、且つバンドパスフィルタ7及び7'の透過波長領域Bと重なり合わない短波長側にある。即ち、透過微分干渉の光像は、バンドパスフィルタ7の透過波長領域Bの照明光のみが標本3を透過して対物レンズ11を透過し、ダイクロイックミラー18、吸収フィルタ19、第2のダイクロイックミラー23、及びバンドパスフィルタ7'を透過してイメージセンサ26に入射する。

【0030】此時、第2のダイクロイックミラー23により僅かに反射した光は、ローパスフィルタ21'によってカットされるので、撮像面24に入射することはない。一方、落射照明により励起された蛍光は、ダイクロイックミラー18、吸収フィルタ19を透過した後、第2のダイクロイックミラー23で反射し、ローパスフィルタ21'を透過して撮像面24に入射する。従って、微分干渉像はイメージセンサ26の焦点検出光学系側へ、蛍光像は撮像面24の撮像光学系側へ、完全に分離される。

【0031】また、光路分割プリズム20で反射して観察光学系に導入された観察光は、ローパスフィルタ21により透過微分干渉光が遮断され、蛍光のみが接眼レンズ22へ導かれる。

【0032】次に、第1の実施の形態における電気信号の接続及び処理の形態について、図1に基づいて説明する。イメージセンサ26は、投影された光像の入射光量と露光時間に応じた電圧に相当するアナログ信号を出力するようにしている。

【0033】また、イメージセンサ26には、アナログ信号処理回路27を接続し、このアナログ信号処理回路27に評価関数演算器28を接続すると共に、CPU2

(5)

特開2001-91822

7

8

9を接続している。アナログ信号処理回路27は、イメージセンサ26からのアナログ信号を増幅すると共に、フィルタ処理等のアナログ処理を実行する。

【0034】さらに、評価関数演算器28は、アナログ信号処理回路27で処理されたアナログ信号を取り込み、所定の評価関数に基づいて、標本3の台焦度を示すデフォーカス量を検出し、そのデフォーカス信号をCPU29へ送信する。

【0035】CPU29は、イメージセンサ26の出力するアナログ信号をアナログ信号処理回路27のレンジに適合させるための制御を行うと共に、評価関数演算器28からのデフォーカス信号に基づいて標本3を合焦とするようなステージ2の移動量及び移動方向の信号をステージ駆動装置30に送信する。

【0036】ステージ駆動装置30は、CPU29からの移動量及び移動方向の信号に基づいてステージ2を上方向に移動させ、台焦調整を行う。また、CPU29は、シャッタ16の開閉信号をシャッタ駆動装置31に送信し、シャッタ駆動装置31は、CPU29からのシャッタ開閉信号に基づいてシャッタ16を開閉する。これらの制御操作は、CPU29と接続した外部コントローラ32の制御開始スイッチにより行うようにしている。

【0037】次に、以上のように構成した第1の実施の形態の動作を、図3に示すフローチャートに基づいて説明する。まずステップ101で、外部コントローラ32からの信号によりオートフォーカス動作を開始すると、ステップ102で、シャッタ16の開閉状態を確認する。ここでシャッタ16が開放されている場合は、ステップ103で、シャッタ駆動装置31へ信号を送ってシャッタ16を閉鎖する。一方、シャッタ16が閉鎖されている場合は、ステップ104で、イメージセンサ26により検出した微分干渉像に基づくアナログ画像信号を読み込み、ステップ105で、イメージセンサ26のアナログ信号がアナログ信号処理回路27のレンジに適合しているかチェックする。

【0038】ここで、レンジが適合していない場合には、レンジが適合するまでイメージセンサ26の露光時間を制御する。一方、レンジが適合している場合には、ステップ106で、イメージセンサ26の信号より所定の評価関数に基づき台焦度を示すデフォーカス量を演算する。そして、ステップ107で、算出されたデフォーカス量から台焦判定を行い、台焦していないと判断した場合は、ステップ108で、デフォーカス量に応じたステージ2の移動量及び移動方向の信号をステージ駆動装置30に送信してステージ2の駆動を行うと共に、ステップ104に戻り、ステップ104～ステップ108の一連の動作を合焦と判断されるまで繰返し、ステップ107で台焦と判断された後、ステップ109で、シャッタ駆動装置31へ信号を送ってシャッタ16を開放し、

ステップ110に進んで制御を終了する。

【0039】以上述べた第1の実施の形態によれば、以下に記すような効果を得ることができる。まず、撮像面24に配置したTVカメラや写真フィルム等を用いた光学撮影におけるオートフォーカス動作は、イメージセンサ26に投影される透過微分干渉観察による標本像に基づいて行われる。イメージセンサ26への入射光量は、光源4から出射する光量を大きくすることにより、相対的に大きくすることができ、その結果、アナログ信号処理回路27のレンジに適合するためのイメージセンサ26の露光時間を短くすることができる。従って、光量の小さい光学観察においても、オートフォーカス動作に要する総時間を短くすることができる。

【0040】また、標本3から発光対物レンズ11で集められた蛍光は、イメージセンサ26の焦点検出光学系側へ分割されることなく、撮像面24の撮像光学系側へ効率良く導入される。

【0041】さらに、透過微分干渉観察のアナライザ25は、第2のダイクロイックミラー23よりもイメージセンサ26側に配置されており、光学観察の光路上には存在しないので、アナライザ25を通過することによる光量ロスとは光学観察においては起こらない。

【0042】また、第2のダイクロイックミラー23で反射した僅かな透過微分干渉観察光は、ローパスフィルタ21'によって撮像面24への導入を遮断される。従って、撮像面24において、蛍光の光量ロスが少なく且つバックグラウンドの抜けが良い高効率な蛍光像の撮像が可能となる。同様に、接眼レンズ22側の観察光学系においても、ローパスフィルタ21によって透過微分干渉観察光が遮断されるので、蛍光の光量ロスが少なく且つバックグラウンドの抜けが良い高効率な蛍光観察が可能となるばかりでなく、バンドパスフィルタ7の透過波長領域Bが近赤外域に設定されるような場合でも、有害な近赤外光が目に入らない安全な構成となる。

【0043】さらに、オートフォーカス動作時は、シャッタ16が閉鎖されており、標本3上に励起光が照射されない。従って、光学観察には不要なオートフォーカス動作時の励起光を遮断し、標本3の不要な褪色を防止することができる。

【0044】以上のように、オートフォーカスの所要時間が短く、且つ光学観察の効率を最大限に確保した顕微鏡用焦点検出装置を提供することができる。

【0045】＜第1の実施の形態の変形例＞なお、上述の第1の実施の形態では、ステージ2を上下に移動して標本の台焦を行う形式の顕微鏡について説明したが、対物レンズ11を上下に移動して標本の合焦を行う形式の顕微鏡においては、ステージ2の代りに対物レンズ11を駆動することにより、同様の効果を得ることができる。また、前述の第1の実施の形態において、ローパスフィルタ21'の代りに、図4に示すように蛍光波長の

(5)

特開2001-91822

9

10

強度分布と略同一な分光透過特性を有するローパスフィルタ21'を用いても、同様の効果を得ることができる。

【0046】さらに、前述の第1の実施の形態において、ローパスフィルタ21の代わりに、観察光学系の中の接眼レンズ等の光学部材に近赤外反射コートを施すことによっても、同様の効果を得ることができる。

【0047】また、前述の第1の実施の形態では、第2のダイクロイックミラー23の透過側に焦点検出光学系を、反射側に撮像光学系を配置したが、図5に示すように反転することも可能である。

【0048】なお、図5における構成要素の番号は、図1における同一の構成要素に対応している。この場合、第2のダイクロイックミラー23の分光透過率特性は、図6に示すように、特定される波長領域より短い波長の光が透過し、前記波長領域より長い波長の光が反射するように設定することで、前述の第1の実施の形態と同様の効果を得ることができる。

【0049】尚、バンドパスフィルタ7、励起フィルタ17、ダイクロイックミラー18、吸収フィルタ19及びバンドパスフィルタ7'の分光透過率特性については図1と同様である。また、第2のダイクロイックミラー23により、微分干渉観察光の撮像面24側への進入は完全に遮断できるので、ローパスフィルタ21'は不要となる。

【0050】＜第2の実施の形態＞図7は、本発明の第2の実施の形態を示した構成図である。尚、図7において図1と同一な部分に関しては、同一番号を付し説明を省略する。図において、41は前記励起フィルタ17、前記ダイクロイックミラー18、及び前記吸収フィルタ19を一体的に保持したキューブカセットであり、このキューブカセット41は、後述するように、励起蛍光の波長を切換えるために、前記励起フィルタ17、前記ダイクロイックミラー18、及び前記吸収フィルタ19の分光透過率特性の異なる複数のキューブカセット41を選択的に光路中に挿入できるようにしている。

【0051】また、前記第2のダイクロイックミラー23よりイメージセンサ26側の焦点検出光学系の中には、光路長補正ユニット42が組み込まれている。この光路長補正ユニット42は、例えば図に示すように、材質が異なるクサビ型のプリズム43a及び43bを上下に重ね一体化することで平行平板プリズム43を形成し、この平行平板プリズム43を図示矢印方向に平行移動可能にするものであり、前記の材質が異なる2枚のクサビ型プリズム43a、43bの厚さの割合から平行平板プリズム43を通過する光路長の割合を変化させるものである。尚、この技術は特開平9-189849号公報において開示されているものである。

【0052】図8は、この第2の実施の形態における、前記キューブカセット41の切換部を示した拡大図であ

る。図において、41a～41cはキューブカセットであり、このキューブカセット41a～41cは、図示矢印方向に平行移動可能に設置されたホルダ44上に装着される。すなわち、この図においてはキューブカセット41bが光路中に挿入されているが、ホルダ44を図示矢印方向に平行移動することで、キューブカセット41aまたは41cを光路中に挿入することが可能である。

【0053】また、キューブカセット41a～41cには、蛍光の波長に基づいて各々のキューブを識別するためのフラグ45a～45cが設けられている。そして、光路中に挿入されているキューブカセットのフラグ（図においては45b）の対向する近接位置には、前記フラグ45の形状を識別する識別センサ46が、顕微鏡本体1に固定された状態で設けられている。このフラグ45と識別センサ46は、例えば永久磁石と磁気センサの如き組合せて構成することができる。

【0054】なお、図9は、この識別センサ46に対する前記フラグ45a～45cの位置関係を示した概念図である。この例においては前記識別センサ46は2つの香地を有し、キューブカセットが光路中に挿入された時に右香地もしくは左香地のいずれかにフラグ45が対向するようになっている。

【0055】次に、第2の実施の形態における電気信号の接続及び処理の形態について説明する。前記識別センサ46は、識別回路47を接続し、この識別回路47は、CPU29に接続され、前記フラグ45が対向する前記識別センサ46の香地に基づくキューブカセット識別信号をCPU29に送信する。

【0056】CPU29は、識別回路47の送信するキューブカセット識別信号に基づいて、前記撮像面24に対する前記イメージセンサ26の同軸差を補正するような前記平行平板プリズム43の移動量及び移動方向の信号を、光路長補正ユニット駆動装置48に送信する。

【0057】光路長補正ユニット駆動装置48は、CPU29からの移動量及び移動方向の信号に基づいて、前記平行平板プリズム43を図示矢印方向に平行移動させ、前記撮像面24に対する前記イメージセンサ26の同軸補正を行う。

【0058】図10及び図11は、前記の同軸補正の補正量を設定するためのモデルであり、縦軸は台焦位置、横軸は光線の波長を示している。また、図中の実線は撮像面24への入射波長に対する台焦位置を、破線はイメージセンサ26への入射波長に対する台焦位置を示している。

【0059】ここで、イメージセンサ26への入射波長は、バンドパスフィルタ7'の分光透過率特性によって決まるので、このバンドパスフィルタ7'の分光透過率特性のピークをfとすると、イメージセンサ26の台焦位置は図中のpの位置となる。そして、観察像の焦点深度に基づいて、前記撮像面24に対する前記イメージセ

11

ンサ26の同軸差の許容値を a とすると、図10においては、台焦精度の保証範囲は図中の c 及び c' の波長範囲となる。

【0060】一方、図11は、光路長補正ユニット42を駆動して焦点検出光路の光路長をかえることにより、図10の破線を横軸方向に移動させたものである。ここにおいて、台焦精度の保証範囲は図中の c' の波長範囲となる。従って、このモデルの場合、光路長補正ユニット42の位置を図10もしくは図11の位置の2段切換とすることで、 $c \sim c'$ の波長範囲での台焦精度が保証される。

【0061】すなわち、この例においては図9に示すように、各々のキューブカセットにおいて2カ所のフラグを使い分けることにより、蛍光の波長に対応した光路長補正が可能となる。

【0062】次に、以上のように構成した第2の実施の形態の動作を、図12に示すフローチャートに基づいて説明する。まずステップ101で、外部コントローラ32からの信号によりオートフォーカス動作を開始すると、ステップ102で、シャッタ16の開閉状態を確認する。ここでシャッタ16が開放されている場合は、ステップ103で、シャッタ駆動装置31へ信号を送ってシャッタ16を閉鎖する。

【0063】一方、シャッタ16が閉鎖されている場合は、ステップ201で、識別回路47により識別センサ46からのフラグ45の番地に基づくキューブカセット識別信号をCPU29に読み込み、ステップ202で、キューブカセット識別信号に基づく平行平板プリズム43の移動方向の信号を光路長補正ユニット駆動装置48に送信して平行平板プリズム43の駆動を行った後、ステップ104に移行する。以下のステップに関しては図3と同一であるので、同一番号を付し説明を省略する。

【0064】以上に示したような第2の実施の形態によれば、第1の実施の形態において記した効果に加え、以下に記すような効果を得ることができる。すなわち、選択的に光路中に挿入されるキューブカセット41の種類を識別し、その結果に基づいて光路長補正ユニット42を駆動することにより、蛍光の波長に基づく撮像面24に対するイメージセンサ26の同軸誤差を補正することができるので、観察像の波長によらず撮像面24に対するオートフォーカスの台焦精度を確保することができる。

【0065】＜第2の実施の形態の変形例＞なお、上述の第2の実施の形態では、光路長補正ユニット42の位置を2段切換としたが、これを見に細分化すれば、撮像面24に対するオートフォーカスの合焦精度をより正確にできることは自明である。例えば上述の第2の実施の形態においては、識別センサ46は2つの番地を有し、キューブカセット41が光路中に挿入された時に右番地もしくは左番地のいずれかにフラグ45が対向するよう

(7)

特開2001-91822

12

になっているが、左右両方にフラグ45を設けたキューブカセット41も識別可能であるから、同じ構成で光路長補正ユニット42の位置を3段階に設定することが可能である。識別センサ46の番地の数を3つにすれば、キューブカセット41の識別は最大7種類まで可能となる。

【0066】また、前述の第2の実施の形態では、材質が異なるクサビ型のプリズム43a及び43bを上下に重ね一体化した平行平板プリズム43を移動させることによって光路長を補正していたが、これをイメージセンサ26自体を動かしたり、波長別の色収差補正レンズを用いても同様の効果を得ることができる。

【0067】さらに、前述の第2の実施の形態では、材質が異なるクサビ型のプリズム43a及び43bを上下に重ね一体化した平行平板プリズム43を移動させることによって光路長を補正していたが、この場合にはイメージセンサ26に集像される像が傾斜が生じる可能性があるため、図13のように構成するようにしてもよい。すなわち、図13(a)は同じ屈折率の2個のクサビ型のプリズム43c、43dを図のように傾斜面同士を組合せ、このうち下側のプリズム43cを固定状態とし、上側のプリズム43dを矢印のごとく平行移動させるように構成したものである。図13(b)は1個の階段状のプリズム43eを矢印のごとく平行移動させるように構成したものである。

【0068】＜第3の実施の形態＞図14は、本発明の第3の実施の形態を示した構成図である。尚、図13において図1及び図7と同一な部分に関しては、同一番号を付し説明を省略する。図において、前記第2のダイクロイックミラー23より撮像面24側の撮像光学系の中には、前記光路長補正ユニット42と略同様の構成による第2の光路長補正ユニット51が組み込まれている。この第2の光路長補正ユニット51は、他の信号から独立的に設けられ、単独でのみ駆動されるように構成されている。

【0069】図15は、前掲の図10及び図11に示したモデルに、前記第2の光路長補正ユニット51による前記撮像面24の台焦位置の移動結果を加えたモデルである。図中の実線は前記第2の光路長補正ユニット51を駆動する前の撮像面24への入射波長に対する合焦位置を、一点鎖線は前記第2の光路長補正ユニット51による前記撮像面24の台焦位置の移動結果を示す。また破線は、前掲の図10及び図11に示したバンドパスフィルタ7'の分光透過特性のピーク f におけるイメージセンサ26の合焦位置 p を、前記光路長補正ユニット42により2段階で補正した結果を示している。

【0070】すなわち、オートフォーカスにより検出された合焦位置に対する前記第2の光路長補正ユニット51を駆動した結果の撮像面24の台焦位置のズレ量は、図の破線に対する一点鎖線のズレ量として示されてい

(8)

特開2001-91822

13

14

る。このモデルが示すように、撮像面24に対する観察像の合焦位置は、オートフォーカスの合焦結果に対して定常的に略一定量のオフセットを持つことになる。

【0071】以上に示したような第3の実施の形態によれば、第1の実施の形態及び第2の実施の形態において記した効果に加え、以下に記すような効果を得ることができる。すなわち、撮像面24に対する観察像の合焦位置を、オートフォーカスの合焦結果に対して定常的に略一定量オフセットすることができるので、例えば図15に示すように光軸方向に厚みの大きい標本において、イメージセンサ26に検出される部分52と撮像したい部分53との厚み方向の位置の差が大きい場合でも、撮像したい部分53の撮像光路における結像位を撮像面24上にマニュアル動作で合わせ込むことで、オートフォーカスにより定常的に53の部分で撮像することが可能となる等、観察者の要求に柔軟に対応したオートフォーカス装置とすることができる。

【0072】＜第3の実施の形態の変形例＞なお、上述の第3の実施の形態では、第2の光路長補正ユニット51の構成を材質が異なる2種類のクサビ型プリズムを上下に重ね一体化した平行平板プリズムを移動させるようにしていたが、これを撮像面24自体を動かしたり、波長別の色収差補正レンズを用いても同様の効果を得ることができる。

【0073】また、前述の第3の実施の形態では、焦点検出光路側の光路長補正ユニット42にCPU29と接続した光路長補正ユニット駆動装置48を接続し、撮像光路側の第2の光路長補正ユニット51は、他の信号系から独立的に設けられ、単独でのみ駆動されるようにしていたが、これとは反対に、図17に示すように、撮像光路側の第2の光路長補正ユニット51にCPU29と接続した光路長補正ユニット駆動装置48を接続し、焦点検出光路側の光路長補正ユニット42は、他の信号系から独立的に設けられ、単独でのみ駆動されるようにしても、同様の効果を得ることができる。

【0074】なお、図17における構成要素の番号は、図14における同一の構成要素に対応している。図18は、この場合の光路長補正ユニット42のマニュアル動作によるイメージセンサ26の合焦位置の移動結果を示したモデルである。図中の破線は前術の図10に示したバンドパスフィルタ7'の分光透過特性のピークfにおけるイメージセンサ26の合焦位置pを、二点鎖線は前記光路長補正ユニット42のマニュアル動作による合焦位置pの移動結果を示し、実線は撮像面24への入射波長に対する台座位置を光路長補正ユニット駆動装置48により2段階で補正した結果を示している。これより、このモデルにおいても、撮像面24に対する観察像の合焦位置は、オートフォーカスの合焦結果に対してして定常的に略一定量のオフセットを持つことが分かる。

【0075】＜第4の実施の形態＞図19は、本発明の

第4の実施の形態を示した構成図である。尚、図19において図1、図7及び図14と同一な部分に関しては、同一番号を付し説明を省略する。図において、61は光路分割プリズム20よりも接眼レンズ22側の観察光路中に設けられたアナライザであり、62は第2のダイクロイックミラー23よりも撮像面24側の撮像光路中に設けられたアナライザである。

【0076】なお、アナライザ61は観察光路から挿脱可能であり、アナライザ62は撮像光路から挿脱可能であるように設けてある。また、透過照明光路中のバンドパスフィルタ7は、透過照明光路から挿脱可能であるように設けてある。

【0077】この構成において、前記バンドパスフィルタ7を透過照明光路から取り除くと、透過照明による観察光は、ローパスフィルタ21及び21'を透過した短波長側の観察光がアナライザ61及び62を介して接眼レンズ22及び撮像面24に進入し、透過微分干渉と蛍光の同時観察像として観察及び撮像される。蛍光単独での観察及び撮像は、前記バンドパスフィルタ7を光路に挿入し、アナライザ61及び62を光路から取り除くことにより行う。一方で、イメージセンサ26側の焦点検出光路にはバンドパスフィルタ7'が入っているため、イメージセンサ26の入射波長や入射光量等の条件、すなわちオートフォーカスのセンシング条件は変えない。

【0078】以上に示したような第4の実施の形態によれば、以下に記すような効果を得ることができる。すなわち、バンドパスフィルタ7、アナライザ61及び62を、各々光路から挿脱することにより、オートフォーカスのセンシング条件を変えることなく、蛍光観察と透過微分干渉同時観察の切換を行うことができる。

【0079】＜第4の実施の形態の変形例＞なお、前述の第4の実施の形態では、アナライザ61及び62を観察光路及び撮像光路に挿脱可能に設けているが、アナライザを第2のウォラストンプリズム12と光路分割プリズム20の間の光路に挿脱可能に設け、且つイメージセンサ26側の焦点検出光路中のアナライザ25を挿脱可能とすることによっても、同様の効果を得ることができる。

【0080】また、前述の第4の実施の形態に示した蛍光観察と蛍光微分干渉同時観察の切換に必要な光学素子の挿脱動作は、電気信号により一括制御することで対応してもよい。

【0081】以上、請求項1、2、3に対応する発明の実施の形態について説明したが、本発明には以下の発明も含まれる。

【0082】(1)請求項1において、例えば図1に示す光源4とコレクタレンズ5とコンデンサレンズ10からなる透過照明手段は、ポラライザ8とウォラストンプリズム9、12を具備し、例えばダイクロイックミラー23からなる波長分離手段により分離された長波長側に

(9)

特開2001-91822

15

アナライザ25を具備した構成でもよい。

【0083】(2)請求項1において、例えば図1の光源14とコレクタレンズ15と励起フィルタ17とダイクロイックミラー18と吸収フィルタ19と対物レンズ11からなる落射蛍光観察手段の中に励起光を遮光するためのシャッタ16を具備し、CPU29からなる制御手段によって合焦が完了した時に前記シャッタ16を開放するように制御されたシャッタ開閉手段を具備した構成でもよい。

【0084】(3)請求項1において、例えば図1のバンドパスフィルタ7からなる特定波長透過手段は、前述の(1)の透過照明手段に挿脱可能に設けた構成でもよい。

【0085】なお、各実施の形態において、透過照明光学系による検鏡法として微分干渉検鏡法を用いているが、位相差検鏡法を用いてもよい。いずれの検鏡法も、生物標本等の透明物体（位相物体）の像にコントラストをつけて、焦点検出を可能にする。

【0086】

【発明の効果】以上詳述したように本発明によれば、落射蛍光観察におけるオートフォーカスの効率が向上する顕微鏡用焦点検出装置を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の顕微鏡用焦点検出装置の第1の実施形態を説明するためのブロック図。

【図2】図1の作用効果を説明するための分光透過率特性図。

【図3】図1の動作を説明するためのフローチャート。

【図4】本発明の顕微鏡用焦点検出装置の第1の実施形態の変形例を説明するための分光透過率特性図。

【図5】本発明の顕微鏡用焦点検出装置の第1の実施形態の変形例を説明するためのブロック図。

【図6】図5の作用効果を説明するための分光透過率特性図。

【図7】本発明の顕微鏡用焦点検出装置の第2の実施形態を説明するためのブロック図。

【図8】図7のキューブカセット41を説明するための斜視図。

【図9】図7の識別センサ46に対するフラグ45の位置関係を示す概念図。

【図10】図7の作用効果を説明するための同焦補正の補正量の設定モデル（光路長補正ユニット切替前）の図。

【図11】図7の作用効果を説明するための同焦補正の補正量の設定モデル（光路長補正ユニット切替後）の図。

【図12】図7の動作を説明するためのフローチャート。

【図13】本発明の顕微鏡用焦点検出装置の第2の実施形態の変形例を説明するための図。

16

【図14】本発明の顕微鏡用焦点検出装置の第3の実施形態を説明するためのブロック図。

【図15】図13の作用効果を説明するための同焦補正の補正量の設定モデルの図。

【図16】図13の作用効果を説明するための厚い標本の合焦モデルの図。

【図17】本発明の顕微鏡用焦点検出装置の第3の実施形態の変形例を説明するためのブロック図。

【図18】図17の作用効果を説明するための同焦補正の補正量の設定モデルの図。

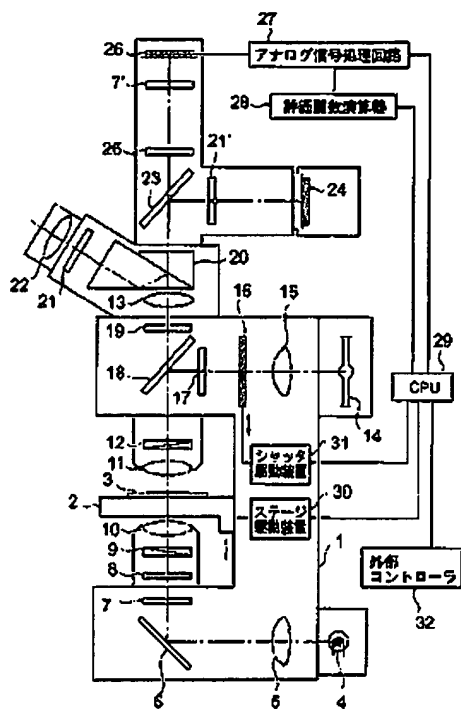
【図19】本発明の顕微鏡用焦点検出装置の第4の実施形態を説明するためのブロック図。

【符号の説明】

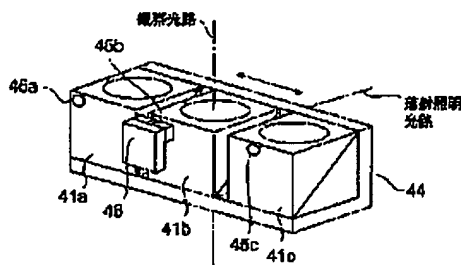
- 1…顕微鏡本体
- 2…ステージ
- 3…標本
- 4…光源
- 5…コレクタレンズ
- 6…全反射ミラー
- 7…バンドパスフィルタ
- 8…ポラライザ
- 9…ウォラストンプリズム
- 10…コンデンサレンズ
- 11…対物レンズ
- 12…ウォラストンプリズム
- 13…結像レンズ
- 14…光源
- 15…コレクタレンズ
- 16…シャッタ
- 17…励起フィルタ
- 18…ダイクロイックミラー
- 19…吸収フィルタ
- 20…光路分割プリズム
- 21…ローパスフィルタ
- 22…接眼レンズ
- 23…ダイクロイックミラー
- 24…撮像面
- 25…アナライザ
- 26…イメージセンサ
- 27…アナログ信号処理回路
- 28…評価閾値演算器
- 29…CPU
- 30…ステージ駆動装置
- 31…シャッタ駆動装置
- 32…外部コントローラ
- 41…キューブカセット
- 42…光路長補正ユニット
- 43…平行平板プリズム
- 44…ホルダ
- 45…フラグ

- 46…識別センサ
47…識別回路
48…光路長補正ユニット駆動装置

【図1】



【図8】

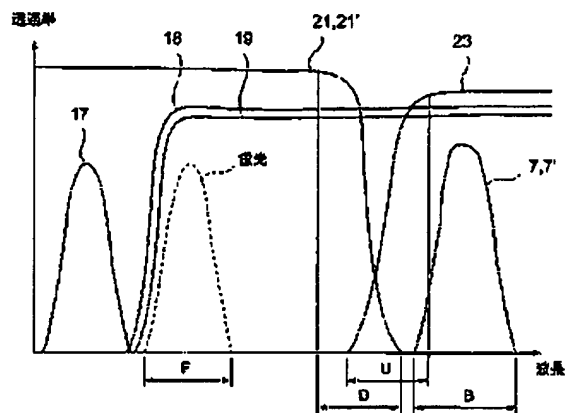


(10)

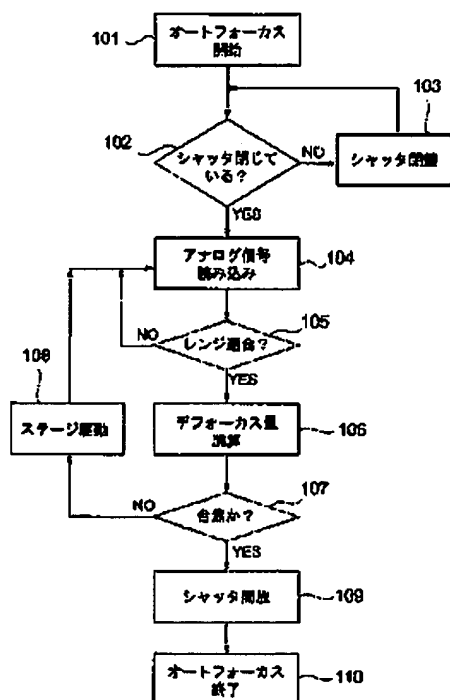
特開2001-91822

- * 51…光路長補正ユニット
61…アナライザ
* 62…アナライザ

【図2】



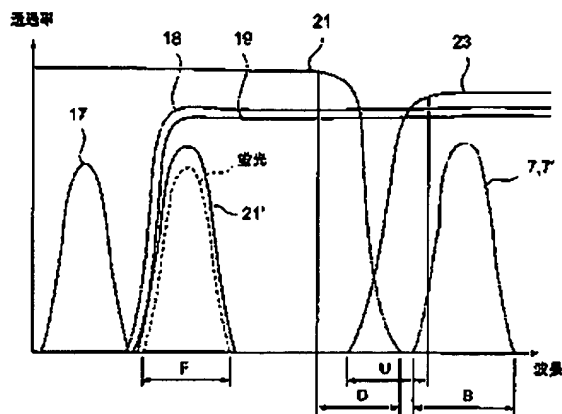
【図3】



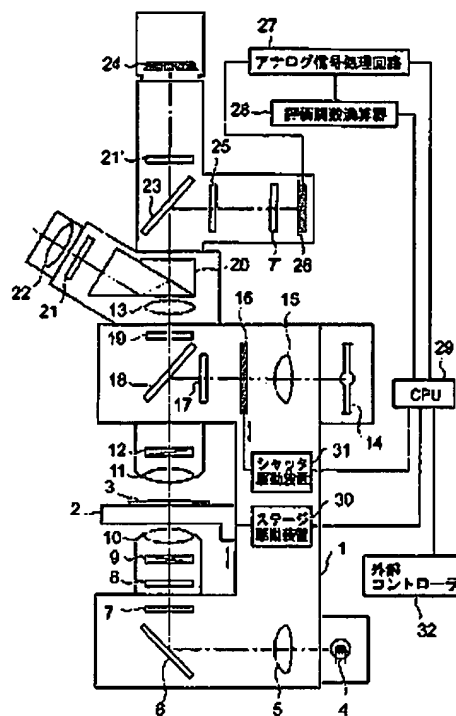
(11)

特開2001-91822

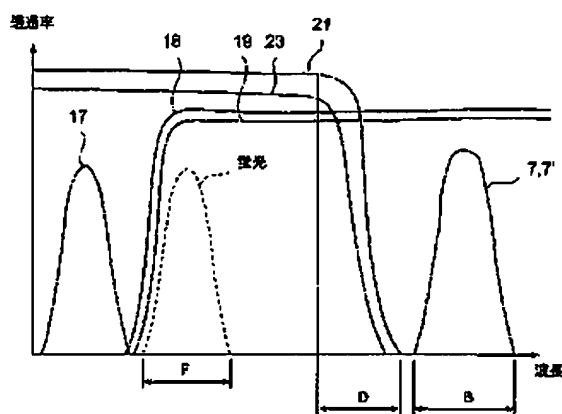
【図4】



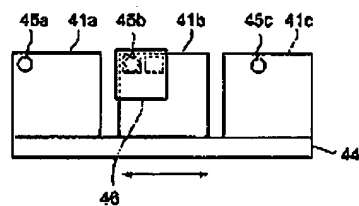
【図5】



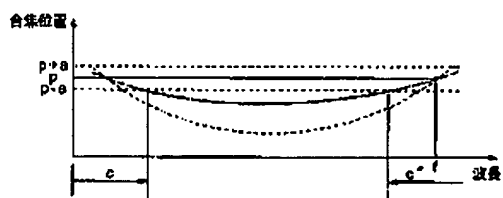
【図6】



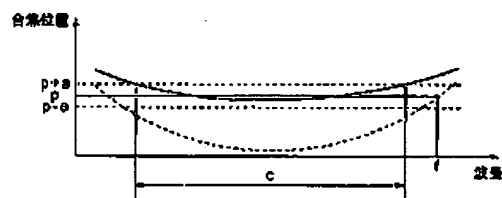
【図9】



【図10】



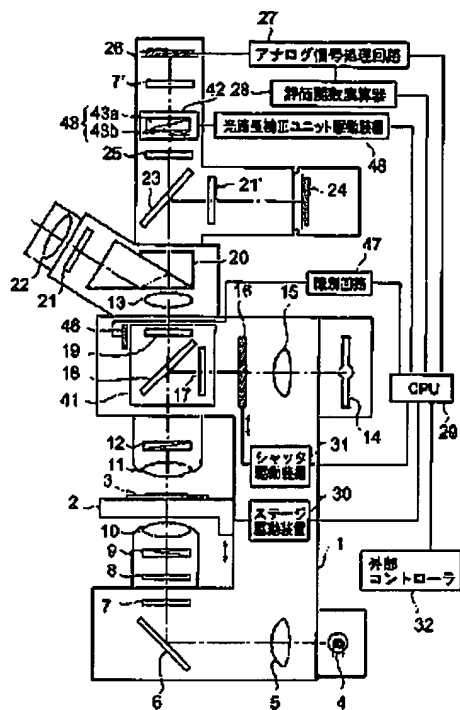
【図11】



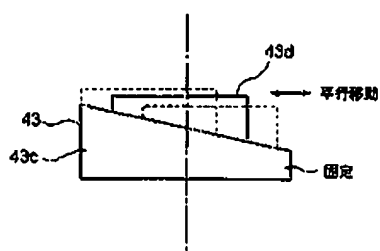
(12)

特開2001-91822

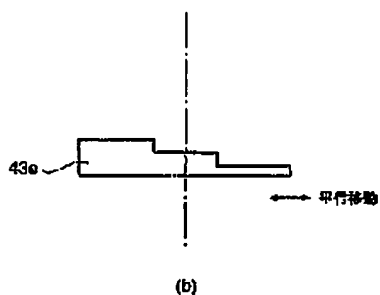
【図7】



【図13】

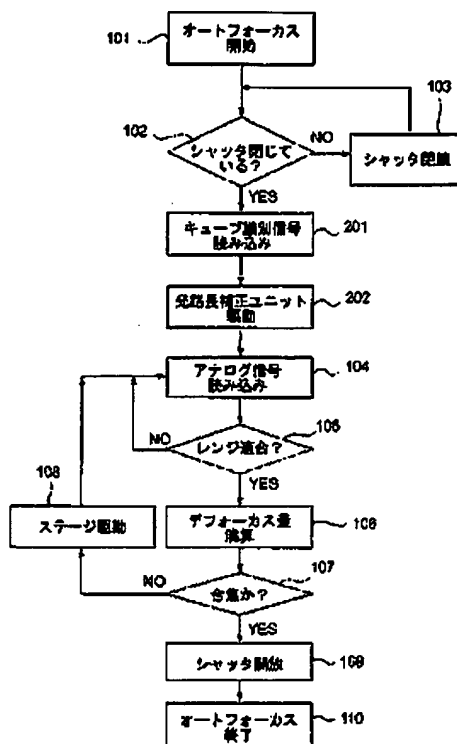


(a)

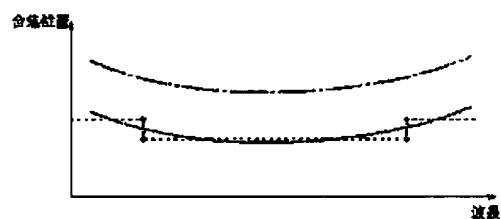


(b)

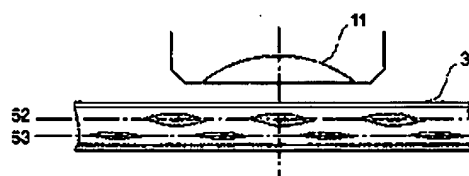
【図12】



【図15】



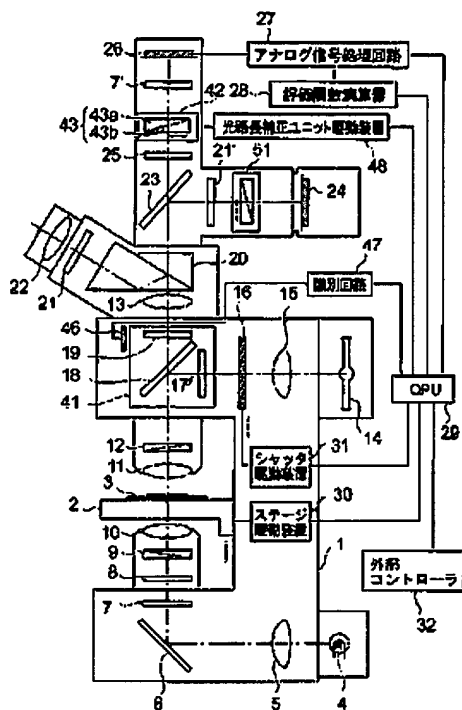
【図16】



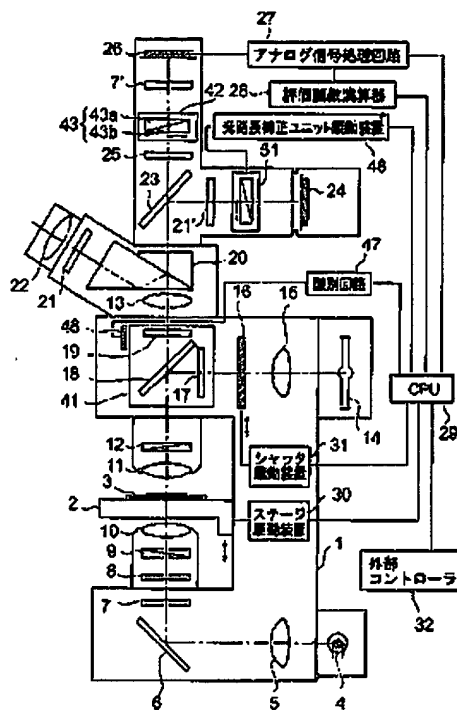
(13)

特開2001-91822

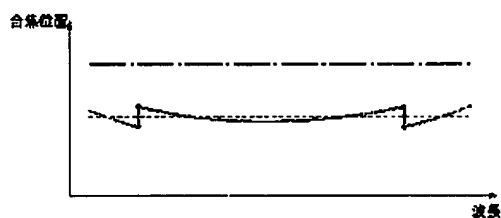
【圖 14】



【圖 17】



【圖 18】



(14)

特開2001-91822

【図19】

